

氏 名	渭川 徹秀
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	第 5626 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学 位 論 文 名	<b>Hypergravity Suppresses Bone Resorption in Ovariectomized Rats</b> (重力負荷は卵巣摘出ラットにおいて骨吸収作用を抑制する)
論文審査委員	主 査 教 授 中村 博亮                      副 査 教 授 三木 隆己 副 査 教 授 稲葉 雅章

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】重力負荷が骨代謝に与える影響は、いまだ明らかになっていない。宇宙空間などのような微小重力環境では骨量が減少するということが分かっている。そこで我々は、反対に、重力負荷には骨量を増加させる効果があるのではないかと考え、動物実験により重力負荷が骨代謝に与える影響を検証し、その機序を明らかにした。

【方法】*in vivo* では 20 週齢の卵巣摘出ラットに対し、自作の回転重力負荷装置（Load G）を用いて 2.9G の重力負荷を 4 週間与えた後、骨密度検査、骨形態計測、組織学的評価を行った。また血清骨代謝マーカーを計測し、骨吸収と骨形成について評価した。*in vitro* ではマウスより骨芽細胞および破骨細胞を分離培養し、同様に Load G を用いて 3 時間の重力負荷をかけた後、TRAP 染色および F-actin 染色にて評価した。

【結果】*in vivo* では、卵巣摘出により減少した海綿骨の骨塩量が、重力負荷により有意に増加していた。骨形態計測では、骨吸収および骨形成のパラメータは、いずれも重力負荷により有意に抑制されていた。TRAP 染色にて破骨細胞数の減少は認めなかった。血清骨形成マーカーと骨吸収マーカーはいずれも重力負荷により減少していた。*in vitro* では、破骨細胞の F-actin 染色にて、重力負荷により破骨細胞周囲の actin ring formation の消失が認められたことから、重力負荷により破骨細胞の機能が抑制されていることが示唆された。

【結論】*in vivo* において重力負荷は卵巣摘出ラットの骨塩量を増加させた。また、骨形成機能および骨吸収機能のいずれも抑制されていた。*in vitro* では、重力負荷は破骨細胞の骨吸収機能を抑制していることが分かった。つまり、重力負荷により、破骨細胞の骨吸収作用が抑制され、結果的に骨密度を増加させる効果があることが分かった。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

宇宙空間などのような微小重力環境では骨量が減少するということが分かっているが、重力負荷が骨代謝に与える影響の詳細は、いまだ不明である。そこで我々は、重力負荷が骨量を増加させるのではないかと考え、動物実験により、重力負荷の骨代謝への影響の検証とその機序の解明を試みた。

*in vivo* では 20 週齢のラットを使用し、卵巣摘出によって骨粗鬆症状態を、また自作の回転重力負荷装置（Load G）中で 2.9G の負荷をかけ、4 週間飼育することで重力負荷状態を再現した動物モデルを作製した。以下の 4 群（①卵巣非摘出、重力負荷なし、②卵巣非摘出、重力負荷あり、③卵巣摘出、重力負荷なし、④卵巣摘出、重力負荷あり）を作成し、それぞれの群で骨構造評価、骨密度検査、骨形態計測、組織学的評価を行った。また血清骨代謝マーカーを計測し、骨吸収と骨形成についても検討を加えた。*in vitro* では、マウスから骨芽細胞および破骨細胞を分離培養し、同様に Load G を用いて 3 時間の重力負荷をかけた後、TRAP 染色および F-actin 染色にて細胞レベルでの評価を行った。

*in vivo* では、卵巣を摘出することでエストロゲンが低下し骨粗鬆症と同様の状態となるが、これにより減少した海綿骨の骨量は、重力負荷により有意に増加していた。骨形態計測では、骨吸収および骨形成のパラメータは、いずれも重力負荷により有意に抑制されていた。組織学的評価においても、卵巣摘出により海綿骨量の減少や lipid droplet の増加が認められたが、重力負荷を加えることによって、海綿骨量は維持され、lipid droplet は著明に減少していた。血清骨形成マーカー（ALP）と骨吸収マーカー（TRAP）はいずれも重力負荷により減少していた。*in vitro* では、破骨細胞の F-actin 染

色にて、重力負荷を加えていない状態では破骨細胞周囲の **actin ring** の形成が認められたが、重力負荷を加えると破骨細胞周囲の **actin ring** の形成は認められなかった。このことから、重力負荷により破骨細胞の機能が抑制されていることが示唆された。

**in vivo** において、重力負荷は、卵巣摘出ラットに対して、骨形成機能および骨吸収機能のいずれも抑制しており、結果的に骨量は増加していた。また、**in vitro** では、重力負荷は、破骨細胞の骨吸収機能を抑制していることが分かった。つまり、重力負荷を加えることにより、破骨細胞の骨吸収機能が抑制され、結果的に骨密度を増加させたと考えられた。

以上の研究は、重力負荷が骨代謝に与える影響を **in vivo** および **in vitro** の研究により明らかにした重要な基礎的研究である。よって本研究は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。